

中国近海大型底栖动物 DNA 条形码的研究进展

杨梅^{1,2,3}, 寇琦^{1,2,3,4}, 李新正^{1,2,3,4}

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生物分类与系统演化实验室, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院海洋大科学研究中心, 山东 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生物学与生物技术功能实验室, 山东 青岛 266237; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: DNA 条形码是利用标准的、变异率适度、易于扩增且相对较短的 DNA 片段对物种进行快速准确鉴定的技术。海洋大型底栖动物分布广泛, 具有多样性、复杂性和趋同性等特点, DNA 条形码技术能够在传统分类学基础上对物种进行快速、准确地鉴定。本文概述了 DNA 条形码技术在中国近海大型底栖动物研究中的发展现状, 如多孔动物(Porifera)、刺胞动物(Coelenterata)、多毛动物(Polychaeta)、软体动物(Mollusca)、甲壳动物(Crustacea)、棘皮动物(Echinodermata)等, 介绍了该技术在物种鉴定、隐存种发现、生物多样性评估等领域的研究进展, 指出了目前条形码技术在应用中的局限性, 并对未来的研究工作进行了展望。

关键词: 大型底栖动物; DNA 条形码; 分类学; 物种鉴定

中图分类号: Q959 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2018)10-0163-11

DOI: 10.11759/hyhx20180726002

中国海是东半球西北太平洋低、中纬度的边缘海, 跨越三个气候带, 拥有多种类型的海岸、河口、岛屿及海底地形地貌, 海洋生物区系种类丰富^[1], 目前已知的大型海洋生物就达 2.5 万种之多^[2]。海洋底栖生物(macrobenthos)指在从潮间带到海底的表面和沉积物中营底栖生活的所有生物^[3]。海洋底栖生物以海洋沉积物底内、底表及水中物体(包括生物体和非生物体)为依托而生存, 从潮间带至海洋深渊均有分布, 是海洋生态系统中数量最多, 生态关系最复杂的类群^[4]。海洋大型底栖动物(Macrozoobenthos)是指在样品分选时不能通过孔径为 0.5 mm 网筛的底栖动物^[4]。大型底栖动物所属门类主要包括多孔动物(Porifera)、刺胞动物(Coelenterata)、环节动物多毛类(Polychaeta)、软体动物(Mollusca)、节肢动物甲壳类(Crustacea)和棘皮动物(Echinodermata)等类群。此外, 纽虫(Nemertea)、蠕虫(Echiura)、星虫(Sipuncula)和底栖鱼类(Pisces)等亦为大型底栖动物的常见类群^[3]。在海洋生态系统中, 大型底栖动物能够通过营养关系, 使水层沉降的有机碎屑得以充分利用, 并有效降低水体及沉积物中污染物的浓度, 在海洋生态系统的物质循环和能量流动中起着举足轻重的作用^[5]。

海洋生物的科学鉴定是海洋科学研究和资源可持续利用的基础, 但目前我国专业的海洋生物分类

学研究团队规模有限, 且海洋生物所具有的表型可塑性、种内性别二态性及不同种间趋同进化等特点导致隐存种属普遍存在, 使得传统形态学鉴定方法存在诸多局限^[3]。分子生物学技术的不断创新为分类学的发展提供了新的机遇, 2003 年加拿大学者 Hebert 等^[6]提出利用线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I(COI)基因序列的多态性, 能够实现 DNA 水平上物种的区分, DNA 条形码(DNA barcoding)技术应运而生。

DNA 条形码技术是利用一段标准的、变异率适度、易于扩增且相对较短的 DNA 片段对物种进行快速准确的鉴定, 实现物种和 DNA 序列间一一对应的关系。要求 DNA 条形码在种间的遗传变异明显大于种内, 以形成相应的条形码间隙(barcoding gap)^[7], 并且该片段应包含足够的系统发育信息, 能够将未知样品通过系统发生树的构建划分至合适的类群^[8]。

收稿日期: 2018-07-26; 修回日期: 2018-09-11

基金项目: 国家自然科学基金(41506173); 科技部基础性工作专项(2014FY110500)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No. 41506173; Basic Work of the Ministry of Science and Technology, China, No. 2014FY110500]

作者简介: 杨梅(1985-), 女, 山东临沂人, 汉族, 助理研究员, 博士, 电话: 0532-82896551, 从事底栖生物分子生物学研究, E-mail: yangmeiquietsnow@163.com; 李新正, 通信作者, 研究员, 博士生导师, 电话: 0532-82898771, 从事底栖生物学研究, E-mail: lixzh@qdio.ac.cn

与传统的形态学分类鉴定相比, DNA 条形码技术的优势主要体现在: ①准确性高, 不受物种表型可塑性的影响; ②不受个体发育阶段及性别的限制; ③能够有效鉴定传统形态学分类难以发现的隐存种或新种; ④对样品要求低, 操作简单, 通过 DNA 条形码数据库的建立, 可以实现数据共享和信息化管理, 快速实现样品的大批量鉴定^[9-10]。

1 中国近海大型底栖动物 DNA 条形码的研究进展

1.1 多孔动物 DNA 条形码的研究进展

多孔动物门又称海绵动物门(Spongia), 是最原始的多细胞动物, 不含组织和器官系统, 结构简单, 在海洋生态系统和海洋天然产物制备中占有重要地位^[11]。鉴于可用的研究资料较少和高度多样化等原因, 多数海绵的形态鉴定异常困难。DNA 条形码的出现, 有助于开展海绵的分子生物学鉴定和分子系统学相关工作。目前, 在海绵中运用较多的分子标记有 16S rDNA、18S rDNA、28S rDNA、COI 基因和内源转录间隔区(internally transcribed spacer, ITS) 序列^[12-14]。Park 等^[15]的研究表明, 在软海绵科(Halichondriidae)中, ITS 比线粒体基因更适合作为该物种的条形码。但鉴于各片段在不同海绵类群中的应用效果不同, 目前尚未获得一致的海绵动物门的条形码标准片段。目前, 我国海绵分类学研究尚处于起步阶段, 所记录的海绵绝大部分只有物种名录, 缺乏详细的物种描述^[16-17]。随着深海采样技术的进步和分子生物学技术的成熟, 龚琳^[18]首次较为系统地开展了西太平洋深海海绵分类学的研究, 获得了 21 个海绵物种的 16S rDNA 基因片段, 为我国海绵分类鉴定和系统演化提供了分子生物学数据。

1.2 刺胞动物 DNA 条形码的研究进展

刺胞动物是较为原始的后生动物, 在进化过程中占有重要地位, 包括珊瑚纲(Anthozoa)、水螅纲(Hydrozoa)、钵水母纲(Scyphozoa)、十字水母纲(stauzoa)和立方水母纲(cubozoa)五大类群。其中, 珊瑚纲生物具有较强的表型可塑性, 于不同生境下的生态种差别很大, 依靠形态鉴定具有一定的难度, DNA 条形码的出现为珊瑚纲生物的有效鉴定带来了曙光。但由于珊瑚纲中的线粒体基因组进化速率缓慢, 使用常用的标准条形码 COI 基因序列难以实现近缘种的区分。例如, Shearer 和 Coffroth^[19]曾尝试采

用线粒体 COI 基因片段对加勒比海区的 30 种珊瑚进行研究, 发现该片段在种间和种内的遗传变异程度很低, 甚至没有变异, 不适合作为珊瑚纲物种鉴定的分子标记。建议将 ITS 序列和 16S rDNA 作为珊瑚纲生物 DNA 条形码的主要备选序列^[15, 20]。Takabayashi 等^[21]曾使用 ITS 序列对石珊瑚目(Scleractinia)中 7 个属的珊瑚进行了多样性研究, 发现该序列适用于种间和种内的遗传多样性研究。随后, Lam 和 Morton^[22]采用 ITS 序列进行了 2 种扁脑珊瑚(*Platygyra*)的鉴定; 张颖等^[23]的研究亦表明, 使用 ITS 序列鉴定蔷薇珊瑚属(*Montipora*)的珊瑚具有一定的可靠性和适用性, 并与形态分类的结果吻合。此外, 还有研究表明线粒体细胞色素 b 基因(Cytb)和核糖体 18S rDNA 可用于海葵科(Actiniidae)物种的分类鉴定, 其中 Cytb 基因能更好地验证较低分类单元的种属关系^[24]。

水螅类群和水母类群分布范围广泛, 生活方式多样, 有些物种具有水螅体、水母体世代交替的生活史, 加上生境的差异, 使得形态特征易产生较大变化, 依靠传统分类学难以实现有效鉴定^[25-26]。虽然线粒体基因组在珊瑚纲中的变异速率慢, 但在水螅纲和钵水母纲中则趋于正常^[27-28]。目前国外已有不少研究表明 COI 和 16S rDNA 基因序列可作为水螅纲和钵水母纲的 DNA 条形码^[29-32]。近十年来, 我国对水母类群 DNA 条形码也开展了诸多研究, 在水螅纲的水螅属(*Hydra*)和多管水母属(*Aequorea*)中, COI 基因被证明有足够的分化率可以作为同属种间差异的标准^[33]; 张瑛妮等(2015)^[34]的研究表明, 分别以 COI 和 16S rDNA 作为 DNA 条形码均能对北部湾 28 种水螅纲实现物种鉴定; 赵霞等^[35]利用 16S rDNA 和 COI 基因序列作为 DNA 条形码对从北极海域采集到的水螅样品实现了鉴定。在钵水母纲中, 采用 COI 基因序列作为条形码, 我国科研人员实现了根口水母科(Rhizostomatidae)、口冠水母属(*Stomolophus*)和海月水母属(*Aurelia*)等水母种属的有效鉴定^[36-38]; 程方平等^[39]的研究亦表明, COI 作为 DNA 条形码可实现对中国北方习见水母的种类鉴定。

1.3 环节动物多毛类 DNA 条形码的研究进展

多毛纲是环节动物门最大的一个纲, 是海洋生物资源的重要组成部分, 作为海洋大型底栖生物中的常见类群, 其生境广阔、种类繁多、生活史复杂,

专业研究人员匮乏, 相较其他无脊椎动物(软体动物、甲壳动物等)而言, 以形态学为基础的多毛纲分类学研究进展缓慢, 相应的 DNA 条形码研究亦较为薄弱。目前国际上的相关研究多集中于东太平洋和大西洋特定的几个属和种^[40-43]。近年来, 我国科研人员也积极进行了相关研究, 在浙江和福建沿海针对多毛类动物进行了多次采样, 并对样本进行了形态学鉴定以及线粒体 COI 序列分析, 结果表明沙蚕科(Nereidae)、矾沙蚕科(Eunicidae)、索沙蚕科(Lumbrineridae)和背鳞虫科(Lepidonotinae)科内种间距离远大于种内距离, 从而印证了 COI 可作为多毛类动物的条形码; 此外, 还设计了 1 对特异性引物, 适用于扩增 A+T 含量较高的多毛类物种的 COI 基因片段^[44-46]。

1.4 软体动物 DNA 条形码的研究进展

软体动物门分布广泛, 种类繁多, 分为单板纲(Monoplacophora)、无板纲(Aplacophora)、多板纲(Polyplacophora)、掘足纲(Scaphopoda)、腹足纲(Gastropoda)、双壳纲(Bivalvia)和头足纲(Cephalopoda)^[47]。目前 DNA 条形码在单板纲、无板纲、多板纲及掘足纲中的研究较少^[48], 在腹足纲、双壳纲和头足纲的分类鉴定中应用较为广泛。

近年来, 我国科研人员在腹足纲的新进腹足目(Caenogastropoda)、新腹足目(Neogastropoda)、真帽贝类(Patellogastropoda)和珍珠蛞蝓目(Cyclonertimorpha)的 DNA 条形码与系统发育研究中取得了巨大进展。新进腹足目是腹足纲中种类最丰富的类群, 目前已获得中国沿海新进腹足目 45 个种 110 条 COI 序列, 通过对种内、属内和科内遗传距离的分析, 认定其 COI 序列的种间遗传距离远大于种内遗传距离, 存在条形码间隙, 可作为 DNA 条形码实现物种的有效鉴定^[49]。

对新腹足目贝类的一些经济种类, 如骨螺科(Muricidae)和织纹螺科(Nassariidae), Zou 等^[50]利用 DNA 条形码技术和相关分子标记进行了全面的物种鉴定和系统发育, 并验证了 DNA 条形码及其分析方法的有效性。新腹足目贝类的主要分类特征集中于贝壳外部特征和消化系统解剖结构, 受生境的影响, 上述形态特征的可塑性较强, 从而使得传统分类学方法下新腹足目贝类的物种鉴定和系统发育分析较为混乱。Zou 等^[51]运用 COI、16S rDNA、ITS-1 和 28S rDNA 四个基因位点对我国近海骨螺科物种开展了鉴定工作, 结果表明 16S rDNA、ITS-1 和 28S

rDNA 可以区分除近缘种外的大部分物种, 而 COI 基因能够对全部种类实现有效区分, 更适合作为骨螺科条形码。同时, 结合外部形态、线粒体及核基因序列, 成功鉴定出中国沿海 13 个织纹螺种类, 发现了 4 个隐存种和 2 个同物异名种类, 该结果对织纹螺属的隐存种多样性保护具有现实意义^[52]。

真帽贝, 即 Patellogastropoda 目的帽贝, 属岩石潮间带广布种, Lin 等^[53]获取了采自中国沿海的花帽贝科(Nacellidae)和笠贝科(Acmaeidae)的 13 个种的 135 条 COI 序列, 发现种间存在明显的条形码间隙, 且得到了系统发育树的支持, 证明了利用 COI 基因可以实现真帽贝类物种的快速准确鉴定。

蛞蝓科(Neritidae)隶属于腹足纲、珍珠蛞蝓目(Cycloneritimorpha), 其形态结构和系统演化在腹足类中是较独特的分支^[54], 以往的分类研究多基于形态学^[55-56], 易产生鉴定争议^[57], 而 DNA 条形码技术能够减少形态多样所引起的争议。张晓洁等(2018)^[58]对我国近海 3 属 7 种蛞蝓的 COI 和 16S rDNA 序列进行分析, 发现物种间有明显的条形码间隙, 所有物种在系统发生树中都表现为独立的单系群, 表明 COI 和 16S rDNA 基因序列可以作为 DNA 条形码标准基因对蛞蝓科贝类进行有效鉴定。

目前, 双壳纲的物种鉴定、系统进化关系和隐存种的发现等研究已采用不同进化速率标记进行结合的 DNA 条形码技术, 这不但可以发现不同标记所呈现的系统进化关系的差异, 协助隐存种的多样性分析, 还可以比较这些标记作为 DNA 条形码标记的有效性。例如, Liu 等^[59]将 DNA 条形码技术应用于牡蛎科(Ostreidae)48 个样品, 得到 30 条 COI 序列和 47 条 16S rDNA 序列。研究发现, COI 基因能较好分辨各个种, 16S rDNA 能较好地地区分近缘种之外的大部分种类。遗传距离法分析证实, 牡蛎科中, 尤其是巨牡蛎属(*Crassostrea*)的一些种类, 16S rDNA 序列的遗传变异小于 COI 序列, 表明 COI 基因比 16S rDNA 基因更适用于牡蛎种类的鉴定。冯艳微(2012)^[60]采用 COI 与 16S rDNA 这两个基因测定珍珠贝亚目(Pinctada)75 个样品, 发现 COI 基因的遗传差异大于 16S rDNA 基因, 且 COI 基因的演化速率亦高于 16S rDNA 基因, 表明在珍珠贝亚目的物种鉴定上, COI 基因为更合适的标记。同时, 分析了扇贝科 8 个种 63 个个体的 COI 和 16S rDNA 序列, 发现无论是 COI 还是 16S rDNA, 种间遗传距离都远大于种内遗传距离, 存在条形码间隙。基于 COI 和 16S rDNA 基因的

邻接树(neighbor-joining method, NJ)显示, 所研究物种都以较高的支持度形成相互独立的单系群, 两者都可以作为DNA条形码实现特定扇贝科物种的有效鉴定^[61]。

在帘蛤目缀锦蛤亚科(Tapetinae)5属11种贝类的DNA条形码研究中发现属内种间存在条形码间隙, 系统进化树中, 11个物种均能够形成独立分枝, 肯定了DNA条形码在缀锦蛤亚科物种鉴定中的可行性^[62]。对帘蛤目(Veneroidea)16种经济类物种DNA条形码的研究结果显示, 作为DNA条形码的COI基因与传统的形态学分类在物种鉴定和系统进化关系中均保持了较高的一致性。此外, 为比较COI、16S rDNA、18S rDNA和28S rDNA等DNA条形码基因在鉴定帘蛤目物种及系统发育进化中的鉴定效率, 吴彪等^[63]利用从GenBank数据库随机下载的相关序列, 通过传统距离法和单系聚类法结合分析, 并与实验室获得的部分贝类DNA序列进行验证, 结论指出, 在鉴定帘蛤目物种时, COI和16S rDNA都能够作为条形码基因, 但COI有效性更高, 18S rDNA和28S rDNA基因由于种内变异较大, 不适于作为条形码基因。

科研人员还开展了五种DNA条形码分析方法(距离法、单系法、特征分析法、条形码间隙自动检索法和聚类法)鉴定中国沿海樱蛤总科(Tellinoidea)贝类的比较研究, 并发现COI比相对保守的16S rDNA基因更适合作为异齿亚纲物种的DNA条形码。但基于距离法的DNA条形码分析方法显示, 随着采样地点的扩大, 异齿亚纲(Heterodonta)种内遗传距离有增大的趋势, 使得条形码间隙在近缘种COI基因中消失, 会对条形码的鉴定结果产生消极影响^[64]。

头足纲(Cephalopoda)是软体动物门的第三大纲, 鉴于其近缘种间形态差异小且表形可塑性强, 单纯依靠形态学鉴定较困难, 因此也将DNA条形码技术引入了头足类的物种鉴定研究中^[65]。与双壳纲类似, 头足纲中DNA条形码的应用同样显示出了其在物种鉴定和发现隐存种上的优势。Sin等^[66]运用COI和16S rDNA对形态特征相似的中国枪乌贼(*Uroteuthis chinensis*)和剑尖枪乌贼(*Uroteuthis edulis*)进行鉴定, 结果显示二者均可将两种乌贼鉴定开来。对我国33种百余个头足纲个体的DNA条形码研究显示, 个体间有明显的条形码间隙, 证实了COI基因用作头足类DNA条形码的可行性^[67]。

虽然目前在软体动物中, 关于DNA条形码可用

基因的研究已有很多, 但分析总结的工作开展较少。刘寒苗^[68]通过对腹足纲、帘蛤目、珍珠目(Pterioidea)、贻贝目(Mytiloidea)各个基因水平条形码的比较分析, 发现COI和16S rDNA可以作为DNA条形码用来鉴别分类, 并适合于各个分类阶元的系统发育分析, 而18S rDNA和28S rDNA因进化过程较保守而更适合于分析属以上的分类阶元。赵庆等^[69]利用COI分析了我国重要贝类的系统进化关系, 结果显示60个物种中的52个物种在进化树中的进化地位与传统系统分类一致。

1.5 甲壳动物DNA条形码的研究进展

藤壶科(Balanidae)是甲壳纲中较低等的物种, 多以壳板形态、壳表面肋、盖板、口器、蔓足的毛序等可塑性较强的特征作为分类依据, 因此常引起争议。原帅等^[70]测定了藤壶科3属7种的COI、16S rDNA和12S rDNA的部分序列, 并结合其他藤壶科物种的相关序列进行研究, 结果表明COI基因的种间和种内遗传距离有明显的间隔区, 而16S rDNA的种间与种内距离存在覆盖, 因此COI能更准确地鉴定藤壶科种间及种内关系。

口足目(Stomapoda)具有丰富的物种多样性, 是我国海洋底栖动物中重要的经济类群。口足类的属内种间鉴别特征有的极为相似, DNA条形码技术可以弥补传统形态学鉴定的某些局限。Tang等^[71]和沙忠利等^[72]的研究均表明, COI基因的遗传距离随分类阶元的增高而增大, 种间和种内遗传距离存在明显间隙, 基于COI所构的系统发育树也能够将物种进行准确分类, 证明了COI序列作为DNA条形码标准基因在口足类物种鉴定中的有效性。

对虾科(Penaeidae)包含有26个属, 约有200多种对虾, 由于同属内的对虾在形态上非常相似, 只呈现细微的差别, 使得基于形态学的鉴别较困难。易啸等^[73]采用COI基因研究了32种对虾的核苷酸组成、对虾种间及种内遗传距离, 并用邻接法构建COI基因系统发生树。结果显示, 32个物种的种内平均遗传距离为0.003, 种间平均遗传距离(0.468)是种内遗传距离的156倍, 符合Hebert提出的种间遗传距离大于或等于10倍种内遗传距离的标准。在系统进化树中, 32种对虾中有30种对虾都以较高的置信度聚合成独立的分支。由此可见, COI基因作为对虾科DNA条形码在物种鉴别上具有很好的应用性, 可以作为形态学分类系统的必要补充和佐证。

此外,基于 COI 基因在短尾次目(Brachyura)同属种间种内巨大的遗传差异度,使得 COI 基因成为蟹类物种的有效 DNA 条形码^[74]。浙江海域蟹类资源丰富,快速、精准鉴定各种蟹类,对物种保护和蟹类资源高效利用具有重要意义。目前,已对浙江沿海常见蟹类的 COI 基因进行扩增,获得相应 DNA 条形码,为物种的准确鉴定提供了重要依据^[75-76]。

1.6 棘皮动物 DNA 条形码的研究进展

棘皮动物是大型底栖动物的重要类群和组成部分,目前中国海域已记录的棘皮动物有近六百种^[77]。其中,海参是我国传统的食物和药物资源,梁君妮等^[78]研究发现 COI 片段可以用于海参种类的鉴定。随后,律迎春等^[79]采集了 7 种海参 43 个个体,获得 COI 序列,比较其种间和种内的遗传距离,构建系统发育树,肯定了 COI 作为海参 DNA 条形码的有效性。

2 DNA 条形码在中国近海大型底栖动物研究中的应用与展望

目前 DNA 条形码技术已在我国陆地动植物、海洋鱼类等诸多生物门类的物种鉴定、濒危物种保护、隐存种发现和生物多样性评估等研究领域中得到广泛应用^[80-83]。海洋大型底栖动物 DNA 条形码的相关研究工作也在逐步展开。李海涛等^[84]采用 DNA 条形码技术对冬季采集于大亚湾生态监控区的贝类样品进行了种类鉴定,表明该技术能有效提高海洋贝类物种鉴定的准确性并发现隐存种,在 26 个形态种中,有 15 个可以通过线粒体 COI 和 16S rRNA 基因的系统发育分析鉴定到种的水平。通过条形码可以实现传统形态难以识别的种类的准确鉴定,如线缝褶塔螺(*Ptychobela suturalis*)和区系螺(*Funa* sp.)。同时发现,西格织纹螺(*Nassarius siquijorensis*)、爪哇拟塔螺(*Turricula javana*)、锯齿巴非蛤(*Paphia gallus*)等种类存在相当大的种内遗传距离,有存在隐存种的可能性。科研人员还利用 DNA 条形码技术对长江口的大型底栖动物及部分疑难种进行了鉴定^[85-86]。与此类似,姚瑞^[87]通过一个年度(春、夏、秋、冬四个季度)的多毛类动物样本采集,利用形态学特征与 DNA 条形码技术两种手段(第一代测序技术和高通量测序技术)对南麂列岛国家海洋自然保护区内的多毛类动物的物种多样性组成进行研究,结果表明利用高通量测序可大大提高鉴定效率,但在该研究中,通过高通

量获得的物种鉴定数目少于形态学与一代测序的结果,说明目前我国大型底栖动物 DNA 条形码数据库仍有局限性,其应用还无法完全脱离形态学的物种鉴定基础,日后应继续加强相关研究,以期构建更加完整的数据库信息。

受以往研究手段的显示,作为物种多样性较高的门类,海洋双壳纲的多样性很可能被低估^[88]。例如,Liu 等^[89]对采自中国沿海的 16 个及日本沿海的 1 个栉江珧(*Atrina pectinata*)群体进行 DNA 条形码和形态分析,结果表明上述群体中存在 6 个隐存种。基于 COI 的 DNA 条形码技术提示中国沿海分布的美女蛤(*Circe scripta*)可能至少具有 2 个隐存种,即中国沿海的美女蛤至少为 3 个不同种组成的复合种^[90]。此外,在中国沿海广泛分布的口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*),鉴于其穴居的生活习性认为其群体间遗传分化较大,基于 COI 序列的 DNA 条形码技术表明中国沿海分布的口虾蛄可能至少存在两个隐存种^[72]。

DNA 条形码为生物学研究提供了通用的技术规程、标准的数据平台及丰富的分子信息,2007 年由生命条形码协会(Consortium for the Barcode of Life)建立了第一个最全面和有效的国际 DNA 条形码数据系统,收集、保存、分析和利用世界范围内产生的 DNA 条形码数据,并规范了相关工作流程的标准。此外,还有多个针对特定动物类群的条形码数据库,如鳞翅目生命条形码(Lepidoptera Barcode of Life; <http://lepbarcoding.org>)、鱼类生命条形码行动(Fish Barcode of Life Campaign; <http://www.fishbol.org>)和哺乳动物生命条形码行动(Mammalia Barcode of Life Campaign)等。我国亦大力开展了许多 DNA 条形码项目研究^[91],其中涉及海洋生物且已完成的主要有“我国重要渔业生物 DNA 条形码信息采集及其数据库”,该项目通过统一提交数据的规范格式,实现物种、凭证标本和 DNA 条形码的三级关联,构建了中国渔业生物 DNA 条形码信息平台(<http://www.fishery-barcode.cn>)。该平台数据信息包含物种名录、凭证标本和 DNA 条形码三个数据库,涵盖 6 020 种渔业生物凭证信息和 DNA 条形码资源。平台能够提供方便的网络查询,实现国内外数据共享和合作交流,为渔业生物分类、水产品物种鉴定和濒危物种保护提供重要数据资源。

鉴于多数大型底栖动物类群具浮游幼体阶段,表型可塑性较强,许多同属的近缘种往往依靠一些数量性状进行区分,依靠传统的形态鉴定方法有较大局限性,数据整合亦相对困难,将 DNA 条形码技

术结合形态学鉴定能够更为高效、客观、准确地实现物种的鉴定、隐存种的发现和多样性的评估^[92-93]。但目前 DNA 条形码技术在我国海洋大型底栖动物中的研究与应用存在较大的不平衡。在研究较热门的类群,如软体动物和甲壳动物,已开展了较多的工作,其标准基因基本确定;而在多孔动物、刺胞动物、纽形动物和蠕虫动物等类群,由于专业人员的稀缺和基础资料的积累,使得相关的 DNA 条形码研究工作进展缓慢。此外,以往的研究表明在海洋大型底栖动物的某些类群,依靠单一的条形码基因难以实现物种的有效鉴定,针对不同类群确立有效的多基因片段联合的 DNA 条形码鉴定系统是实现准确鉴定的必要手段。2014 年启动的科技部基础工作专项“我国近海海洋生物 DNA 条形码资源库构建”根据不同生物类群的特点,选择具有代表性的重要海洋生物类群,如原核生物、植物、浮游动物、大型底栖无脊椎动物及鱼类等,在相关形态学鉴定准确的基础上,规模化、系统地获取 DNA 条形码序列,提供一个涵盖 2 000 个物种的 15 000 条标准数据的基础 DNA 条形码数据库,并作为信息共享平台,让更多研究人员参与完善中国近海、远洋甚至深海的海洋生物 DNA 条形码数据库,推动我国海洋生物分类、区系研究和多样性调查工作的开展。

DNA 条形码技术的发展为生物学的研究提供了新的机遇,但假基因的存在、不完全支系演化(incomplete lineage sorting)、基因渗入(introgression)、近缘物种杂交、种内差异和种间差异重叠等情况的出现,在一定程度上增加了该技术的局限性。例如,研究指出小龙虾假基因会导致 DNA 条形码的鉴定结果过高估计物种数目^[94];Feng 等^[95]对杨属 *Populus* L. 的物种进行 DNA 条形码鉴定,由于种间杂交或基因渗入的原因,无法区分分布区重叠或相邻的物种。此外,某些研究选取的分子标记过于单一、取样数量过少,易低估种内差异,会对鉴定结果产生影响。如由于采样密度不足或单分子标记系统发育信息欠缺所引起的口足类 DNA 条形码物种鉴定结果与形态学的分类研究不一致^[72]。但随着研究的深入和测序技术的发展, DNA 条形码已从传统的单个或少数 DNA 片段向大量 DNA 片段或细胞器基因数据发展,伴随而来的细胞器条形码(organelle-barcode)、微条形码(mini-barcode)、宏条形码(meta-barcode)、超级条形码(ultra-barcode)以及基因组浅层测序(genome skimming)等新技术在很大程度上为

DNA 条形码的应用打开了新的大门。在日后的研究中,应抓住机遇,利用新技术,进一步完善中国海域大型底栖动物的 DNA 条形码标准数据库及信息平台建设;针对不同动物类群,筛选最适引物优化扩增体系,提高检测灵敏度;着力解决近缘种、隐存种之间 DNA 条形码分辨率有限的问题;增进与生物地理学、群落生态学和保护生物学等多学科的融合,为大型底栖动物的群落演化和系统发育提供新的研究方向。最后,值得注意的是, DNA 条形码技术不会取代传统的分类学研究,二者是相辅相成的,传统分类学是 DNA 条形码研究的基石,全面深入地实现不同生物类群的准确形态学鉴定是 DNA 条形码研究正确取样的前提。

参考文献:

- [1] 杨梅,李新正.西北太平洋边缘海重要海洋动物分子系统地理学的研究进展[J].广西科学,2016,23(4):299-306.
Yang Mei, Li Xinzhen. Molecular phylogeography of marine animals in marginal seas of the Northwestern Pacific: a summary and prospectiveness[J]. Guangxi Sciences, 2016, 23(4): 299-306.
- [2] 刘瑞玉.中国海洋生物名录[M].北京:科学出版社,2008.
Liu Ruiyu. Checklist of Marine Biota of China Seas[M]. Beijing: Science Press, 2008.
- [3] 沈国英,黄凌风,郭丰,等.海洋生态学[M].北京:科学出版社,2010.
Shen Guoying, Huang Lingfeng, Guo Feng, et al. Marine Ecology[M]. Beijing: Science Press, 2010.
- [4] 李新正.我国海洋大型底栖生物多样性研究及展望:以黄海为例[J].生物多样性,2011,19(6):676-684.
Li Xinzhen. An overview of studies on marine macrobenthic biodiversity from Chinese waters: principally from the Yellow Sea[J]. Biodiversity Science, 2011, 19(6): 676-684.
- [5] 李新正,王洪法,张宝琳,等.黄海和东海大型底栖生物生态学研究进展[J].可持续发展,2012,2(2):80-102.
Li Xinzhen, Wang Hongfa, Zhang Baolin, et al. Advance of the study on the macrobenthos from the Yellow Sea and East China Sea[J]. Sustainable Development, 2012, 2(2): 80-102.
- [6] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-321.
- [7] Hebert P D N, Gregory T R. The promise of DNA barcoding for taxonomy[J]. Systematic Biology, 2005,

- 54(5): 852-859.
- [8] Wang L, Zhuang Y Y, Zhang H, et al. DNA barcoding species in *Alexandrium tamarense* complex using ITS and proposing designation of five species[J]. Harmful Algae, 2014, 31: 100-113.
- [9] Smith M A, Woodley N E, Janzen D H, et al. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(10): 3657-3662.
- [10] Dupont S, Wilson K, Obst M, et al. Marine ecological genomics: when genomics meets marine ecology[J]. Marine Ecology Progress Series, 2007, 332: 257-273.
- [11] Wörheide G, Erpenbeck D. DNA taxonomy of sponges—progress and perspectives[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2007, 87(6): 1629-1633.
- [12] Kelly-Borges M, Bergquist P R, Bergquist P L. Phylogenetic relationships within the order Hadromerida (Porifera, Demospongiae, Tetractinomorpha) as indicated by ribosomal RNA sequence comparisons[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1991, 19(2): 117-125.
- [13] López-Legentil S, Erwin P M, Henkel T P, et al. Phenotypic plasticity in the Caribbean sponge *Callyspongia vaginalis* (Porifera: Haplosclerida)[J]. Scientia Marina, 2010, 74(3): 445-453.
- [14] Pöppe J, Sutcliffe P, Hooper J N A, et al. CO I barcoding reveals new clades and radiation patterns of Indo-Pacific sponges of the family Irciniidae (Demospongiae: Dictyoceratida) [J]. PLoS One, 2010, 5(4): e9950.
- [15] Park M H, Sim C J, Baek J, et al. Identification of genes suitable for DNA barcoding of morphologically indistinguishable Korean Halichondriidae sponges[J]. Molecules and Cells, 2007, 23(2): 220-227.
- [16] 李锦和. 六放海绵一新种——中间单根海绵[J]. 海洋与湖沼, 1987, 18(2): 130-137.
Li Jinhe. *Monorhaphis intermedia*——A new species of Hexactinellida[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1987, 18(2): 130-137.
- [17] 黄宗国, 林茂. 中国海洋生物图集 第三册[M]. 北京: 海洋出版社, 2012.
Huang Zongguo, Lin Mao. An Illustrated Guide to Species in China's Seas[M]. Beijing: China Ocean Press, 2012.
- [18] 龚琳. 西太平洋深海海绵动物分类学及其相关种属的分子系统发育关系初步研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2016.
Gong Lin. The taxonomy of deep sea sponges from the West Pacific Ocean and preliminary study of their molecular phylogeny[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [19] Shearer T L, Coffroth M A. Barcoding corals: limited by interspecific divergence, not intraspecific variation[J]. Molecular Ecology Resources, 2008, 8(2): 247-255.
- [20] Sinniger F, Reimer J D, Pawlowski J. Potential of DNA sequences to identify zoanths (Cnidaria: Zoantharia)[J]. Zoological Science, 2008, 25(12): 1253-1260.
- [21] Takabayashi M, Carter D, Ward S, et al. Inter- and intra-specific variability in ribosomal DNA sequence in the internal transcribed spacer region of corals. In: Proceedings of Australian Coral Reef Society 75 Anniversary Conference[J]. Brisbane: University of Queensland, 1998, 241-248.
- [22] Lam K, Morton B. Morphological and ITS1, 5.8S, and partial ITS2 ribosomal DNA sequence distinctions between two species *Platygyra* (Cnidaria: Scleractinia) from Hong Kong[J]. Marine Biotechnology, 2003, 5(6): 555-567.
- [23] 张颖, 姚雪梅, 王尔栋, 等. 4种蔷薇珊瑚的核糖体基因 ITS 的序列分析和分子鉴定[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2015, 33(1): 39-44.
Zhang Ying, Yao Xuemei, Wang Erdong, et al. Molecular identification of four species of *Montipora* based on rDNA ITS sequencing[J]. Natural Science Journal of Hainan University, 2015, 33(1): 39-44.
- [24] 郑聪霞. 浙江几种常见刺胞动物的 18S rRNA 和 Cyt b 基因序列测定和分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
Zheng Congxia. Sequence Analysis of 18S rRNA and Cytb Gene of some species in Cnidaria from Zhejiang[D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2006.
- [25] Appeltans W, Ah Yong S T, Anderson G, et al. The magnitude of global marine species diversity[J]. Current Biology, 2012, 22(23): 2189-2202.
- [26] 洪惠馨. 中国海域钵水母生物学及其与人类的关系[M]. 北京: 海洋出版社, 2014.
Hong Huixin. The Relationship between Scyphomedusae Biology and Human Beings in China Seas[M]. Beijing: China Ocean Press, 2014.
- [27] Huang D W, Meier R, Todd P A, et al. Slow mitochondrial COI sequence evolution at the base of the metazoan tree and its implications for DNA barcoding[J]. Journal of Molecular Evolution, 2008, 66(2): 167-174.
- [28] Bucklin A, Steinke D, Blanco-Bercial L. DNA barcoding of marine metazoa[J]. Annual Review of Marine Science, 2011, 3: 471-508.
- [29] Hemmrich G, Anokhin B, Zacharias H, et al. Molecular phylogenetics in *Hydra*, a classical model in evolutionary developmental biology[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2007, 44(1): 281-290.
- [30] Ortman B D, Bucklin A, Pagès F, et al. DNA barcoding the Medusozoa using mtCOI[J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2010, 57(24-26):

- 2148-2156.
- [31] Moura C J, Cunha M R, Porteiro F M, et al. The use of the DNA barcode gene 16S mRNA for the clarification of taxonomic problems within the family Sertulariidae (Cnidaria, Hydrozoa)[J]. *Zoologica Scripta*, 2011, 40(5): 520-537.
- [32] Laakmann S, Holst S. Emphasizing the diversity of North Sea hydromedusae by combined morphological and molecular methods[J]. *Journal of Plankton Research*, 2014, 36(1): 64-76.
- [33] 郑连明, 林元烧, 李少菁, 等. 台湾海峡多管水母属一新种及基于线粒体 COI 序列分析鉴定多管水母[J]. *海洋学报*, 2008, 30(4): 139-146.
Zheng Lianming, Lin Yuanshao, Li Shaojing, et al. Morphological and molecular evidences of *Aequorea taiwanensis* n.sp. from Taiwan Strait, with mtCOI sequence analysis for genus *Aequorea*[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2008, 30(4): 139-146.
- [34] 张瑄妮, 郑连明, 何劲儒, 等. 基于线粒体 COI 和 16S 片段序列的北部湾北部水螅水母 DNA 条形码分析[J]. *生物多样性*, 2015, 23(1): 50-60.
Zhang Dangni, Zheng Lianming, He jinru, et al. DNA barcoding of Hydromedusae in Northern Beibu Gulf for species identification[J]. *Biodiversity Science*, 2015, 23(1): 50-60.
- [35] 赵霞, 张培玉, 刘晨临, 等. 几种北极桧叶螅和藪枝螅的 DNA 条形码分析[J]. *海洋科学进展*, 2018, 36(2): 301-309.
Zhao Xia, Zhang Peiyu, Liu Chenlin, et al. DNA barcoding of several species of *Sertularia* and *Obeliain* Arctic[J]. *Advances in Marine Science*, 2018, 36(2): 301-309.
- [36] 张姝, 张芳, 刘媛, 等. 我国海域两种大型水母的分子鉴定[J]. *海洋与湖沼*, 2009, 40(1): 94-101.
Zhang Shu, Zhang Fang, Liu Yuan, et al. Molecular identification of two Macro-Jellyfish in China[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2009, 40(1): 94-101.
- [37] 王建艳, 甄毓, 王国善, 等. 基于 mt-16S rDNA 和 mt-COI 基因的海月水母分子生物学鉴定方法和检测技术[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(3): 847-852.
Wang Jianyan, Zhen Yu, Wang Guoshan, et al. Molecular identification and detection of moon jellyfish (*Aurelia* sp.) based on partial sequencing of mitochondrial 16S rDNA and COI[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(3): 847-852.
- [38] 李玉龙, 董婧, 孙明, 等. 4 种大型水母类 ITS-5.8S rDNA 序列分析及其在钵水母类系统分析中的应用[J]. *中国水产科学*, 2015, 22(6): 1278-1288.
Li Yulong, Dong Jing, Sun Ming, et al. ITS-5.8S rDNA sequences of four Scyphomedusae jellyfish species and their applicability as a phylogenetic analysis marker[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(6): 1278-1288.
- [39] 程方平, 王敏晓, 王彦涛, 等. 中国北方习见水母类的 DNA 条形码分析[J]. *海洋与湖沼*, 2012, 43(3): 451-459.
Cheng Fangping, Wang Minxiao, Wang Yantao, et al. DNA barcoding of common Medusozoa in Northern China based on mtCOI sequence[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, 43(3): 451-459.
- [40] Jolly M T, Viard F, Gentil F, et al. Comparative phylogeography of two coastal polychaete tubeworms in the Northeast Atlantic supports shared history and vicariant events[J]. *Molecular Ecology*, 2006, 15(7): 1841-1855.
- [41] Berke S K, Mahon A R, Lima F P, et al. Range shifts and species diversity in marine ecosystem engineers: patterns and predictions for European sedimentary habitats[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2010, 19(2): 223-232.
- [42] Sampertegui S, Rozbaczylo N, Canales-Aguirre C B, et al. Morphological and molecular characterization of *Perinereis gualpensis* (Polychaeta: Nereididae) and its phylogenetic relationships with other species of the genus off the Chilean coast, Southeast Pacific[J]. *Cahiers de Biologie Marine*, 2013, 54: 27-40.
- [43] Lobo J, Teixeira M A L, Borges L M S, et al. Starting a DNA barcode reference library for shallow water polychaetes from the southern European Atlantic coast[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2016, 16(1): 298-313.
- [44] 严安琪. 基于 COI DNA 序列的东海区多毛类分类鉴定研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2016.
Yan Anqi. Study of Polychaete Taxonomy based on COI DNA sequence[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2016.
- [45] 姚瑞, 谢斐昂, 严安琪, 等. 浙江沿海潮间带多毛类环节动物 DNA 条形码数据库初建[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2017, 36(2): 95-102.
Yao Rui, Xie Feiang, Yan Anqi, et al. Development of DNA barcode reference library for Polychaetous Annelids identified from the coastal intertidal zone of Zhejiang coastal sea[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2017, 36(2): 95-102.
- [46] 周辉. 南麂列岛多毛类 DNA 条形码及物种多样性鉴定[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2017.
Zhou Hui. Characterization of DNA barcodes and species diversity of Polychaetes on Nanji Islands[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2017.
- [47] 刘凌云, 郑光美. 普通动物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
Liu Linyun, Zheng Guangmei. *General Zoology*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2009.
- [48] 吴晓雯, 张华伟, 余海, 等. 基于 DNA 条形码对浙南岛屿日本花棘石鳖的遗传特征分析[J]. *海洋渔业*,

- 2018, 40(3): 265-278.
- Wu Xiaowen, Zhang Huawei, Yu Hai, et al. Genetic polymorphisms of *Liolophura japonica* among the southern of Zhejiang Province based on DNA barcoding[J]. Marine Fisheries, 2018, 40(3): 265-278.
- [49] Sun Y, Li Q, Kong L F, et al. DNA barcoding of Caenogastropoda along coast of China based on the COI gene[J]. Molecular Ecology Resources, 2012, 12(2): 209-218.
- [50] Zou S M, Li Q, Kong L F, et al. Comparing the usefulness of distance, monophyly and character-based DNA barcoding methods in species identification: a case study of neogastropoda[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e26619.
- [51] Zou S M, Li Q, Kong L F. Multigene barcoding and phylogeny of geographically widespread Muricids (Gastropoda: Neogastropoda) along the coast of China[J]. Marine Biotechnology, 2012a, 14(1): 21-34.
- [52] Zou S M, Li Q, Kong L F. Monophyly, distance and character-based multigene barcoding reveal extraordinary cryptic diversity in *Nassarius*: a complex and dangerous community[J]. PLoS One, 2012b, 7(10): e47276.
- [53] Lin J P, Kong L F, Li Q. DNA barcoding of true limpets (Order Patellogastropoda) along coast of China: a case study[J]. Mitochondrial DNA Part A, 2016, 27(4): 2310-2314.
- [54] Kano Y, Chiba S, Kase T. Major adaptive radiation in neritopsine gastropods estimated from 28S rRNA sequences and fossil records[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2002, 269(1508): 2457-2465.
- [55] Woods A J C, Saul L R. New Neritidae from southwestern North America[J]. Journal of Paleontology, 1986, 60(3): 636-655.
- [56] Frey M A. A revised classification of the gastropod genus *Nerita*[J]. The Veliger, 2010, 51(1): 1-7.
- [57] Dekker H. The Neritidae (Gastropoda) from the Circum-arabian Seas, with the description of two new species, a new subgenus and a new genus[J]. Vita Marina, 2000, 47(2): 29-64.
- [58] 张晓洁, 孔令锋, 李琪. 中国沿海常见蜑螺科贝类的 DNA 条形码[J]. 海洋与湖沼, 2018, 49(3): 614-623.
- Zhang Xiaojie, Kong Lingfeng, Li Qi. DNA barcoding in Neritidae species (Gastropoda, Neritimorpha) along the coast of China[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2018, 49(3): 614-623.
- [59] Liu J, Li Q, Kong L F, et al. Identifying the true oysters (Bivalvia: Ostreidae) with mitochondrial phylogeny and distance-based DNA barcoding[J]. Molecular Ecology Resources, 2011a, 11(5): 820-830.
- [60] 冯艳微. 珍珠贝亚目和蚌目 DNA 条形码与系统发生学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Feng Yanwei. DNA barcoding and molecular phylogeny of the Pteriina and Arcoida[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [61] Feng Y W, Li Q, Kong L F, et al. DNA barcoding and phylogenetic analysis of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes[J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(1): 291-299.
- [62] 陈军, 李琪, 孔令锋, 等. 基于 COI 序列的 DNA 条形码在中国沿海缀锦蛤亚科贝类中的应用分析[J]. 动物学研究, 2010, 31(4): 345-352.
- Chen Jun, Li Qi, Kong Lingfeng, et al. COI-based DNA barcoding in Tapetinae species (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) along the coast of China[J]. Zoological Research, 2010, 31(4): 345-352.
- [63] 吴彪, 赵庆, 刘寒苗, 等. 不同 DNA 条形码基因在帘蛤目贝类分类鉴定中的比较分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 880-890.
- Wu Biao, Zhao Qing, Liu Hanmiao, et al. Comparative analysis of different DNA barcoding methods for Veneroidea classification and identification[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(4): 880-890.
- [64] 于贞贞. 异齿亚纲贝类 DNA 条形码与系统发生学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- Yu Zhenzhen. DNA barcoding and molecular phylogeny of Heterodonta[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [65] 王鹤, 林琳, 柳淑芳, 等. 中国近海习见头足类 DNA 条形码及其分子系统进化[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 245-255.
- Wang He, Lin Lin, Liu Shufang, et al. DNA barcoding for Cephalopoda in classification and phylogeny[J]. Journal of Fishery Sciences of China. 2011, 18(2): 245-255.
- [66] Sin Y W, Yau C, Chu K H. Morphological and genetic differentiation of two loliginid squids, *Uroteuthis (Photololigo) chinensis* and *Uroteuthis (Photololigo) edulis* (Cephalopoda: Loliginidae), in Asia[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2009, 369(1): 22-30.
- [67] 代丽娜. 中国沿海头足类 DNA 条形码与分子系统发育研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Dai Lina. DNA barcoding and molecular phylogeny of cephalopods from Chinese waters[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [68] 刘寒苗. 贝类 DNA 条形码的筛选、验证及应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- Liu Hanmiao. Screening, verification and application of barcode for shellfish[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017.
- [69] 赵庆, 吴彪, 刘志鸿, 等. 利用 DNA 条形码 COI 基因分析我国重要贝类系统进化关系[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 880-890.

- 2018, 25(4): 847-857.
- Zhao Qing, Wu Biao, Liu Zhihong, et al. Analysis of evolutionary relationships of important shellfish in China based on the DNA barcoding COI gene[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(4): 847-857.
- [70] 原帅, 安建梅, 沙忠利. 藤壶科 DNA 分类研究[J]. *海洋科学*, 2012, 36(9): 82-88.
- Yuan Shuai, An Jianmei, Sha Zhongli. DNA taxonomy of Balanidae[J]. *Marine Sciences*, 2012, 36(9): 82-88.
- [71] Tang R W K, Yau C, Ng W C. Identification of stomatopod larvae (Crustacea: Stomatopoda) from Hong Kong waters using DNA barcodes[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10(3): 439-448.
- [72] 沙忠利, 王永良, 程娇. 基于线粒体 COI 序列的 DNA 条形码在中国海口足类物种鉴定中的应用分析[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(4): 858-866.
- Sha Zhongli, Wang Yongliang, Cheng Jiao. Application of mitochondrial COI-based DNA barcoding for the identification of stomatopod species (Crustacea, Stomatopoda) in the China Seas[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(4): 858-866.
- [73] 易啸, 王攀攀, 王军, 等. 基于线粒体 COI 的 DNA 条形码在对虾科种类鉴定中的研究[J]. *水产学报*, 2018, 42(1): 1-9.
- Yi Xiao, Wang Panpan, Wang Jun, et al. The research of COI-based DNA barcoding in Penaeidae's identification[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(1): 1-9.
- [74] 原帅. 围胸总目、短尾次目(甲壳动物亚门)DNA 条形码研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2012.
- Yuan Shuai. Thoracica、Brachyura (Thecostraca) DNA barcoding analyses[D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2012.
- [75] 王秀亮, 沈璐, 韩志强. 舟山海域梭子蟹科重要种类 DNA 条形码建立及其系统发育研究[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2017, 36(1): 14-18.
- Wang Xiuliang, Shen Lu, Han Zhiqiang. DNA barcode and molecular phylogeny of the important species in Family Portunidae[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2017, 36(1): 14-18.
- [76] 王娜玲, 胡则辉, 卞光明, 等. 2017. 6 种蟹类 DNA 条形码鉴定技术研究[J]. *安徽农业科学*, 45(26): 131-132, 135.
- Wang Naling, Hu Zehui, Bian Guangming, et al. Identification technology research on DNA barcode of six crabs species[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 45(26): 131-132, 135.
- [77] 廖玉麟, 肖宁. 中国海棘皮动物的种类组成及区系特点[J]. *生物多样性*, 2011, 19(6): 729-736.
- Liao Yulin, Xiao Ning. Species composition and faunal characteristics of echinoderms in China Seas[J]. *Biodiversity Science*, 2011, 19(6): 729-736.
- [78] 梁君妮, 薛长湖, 赵玉然, 等. 海参营养液 DNA 高效快速提取及种类鉴定方法[J]. *食品科学*, 2009, 29(5): 269-272.
- Liang Junni, Xue Changhu, Zhao Yuran, et al. An efficient and rapid method for DNA extraction and species identification from sea cucumber nutrient solution[J]. *Food Science*, 2009, 29(5): 269-272.
- [79] 律迎春, 左涛, 唐庆娟, 等. 海参 DNA 条形码的构建及应用[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(4): 782-789.
- Lv Yingchun, Zuo Tao, Tang Qingjuan, et al. Construction and application of DNA barcoding in sea cucumber Holothurians[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(4): 782-789.
- [80] Xie L, Wang Y W, Guan S Y, et al. Prospects and problems for identification of poisonous plants in China using DNA barcodes[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2014, 27(10): 794-806.
- [81] Chen W T, Ma X H, Shen Y J, et al. The fish diversity in the upper reaches of the Salween River, Nujiang River, revealed by DNA barcoding[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 17437.
- [82] Li J, Zheng X, Cai Y S, et al. DNA barcoding of Murinae (Rodentia: Muridae) and Arvicolinae (Rodentia: Cricetidae) distributed in China[J]. *Molecular Ecology Resource*, 2015, 15(1): 153-167.
- [83] Xing B P, Lin H S, Zhang Z L, et al. DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait[J]. *PLoS One*, 2018, 13(6): e0198109.
- [84] 李海涛, 张保学, 高阳, 等. DNA 条形码技术在海洋贝类鉴定中的实践: 以大亚湾生态监控区为例[J]. *生物多样性*, 2015, 23(3): 299-305.
- Li Haitao, Zhang Baoxue, Gao Yang, et al. DNA barcoding in species identification of seashells: a case study in the ecological monitoring zone of Daya Bay, Guangdong[J]. *Biodiversity Science*, 2015, 23(3): 299-305.
- [85] 梁晓莉. 长江河口大型底栖动物疑难种修订及河口种形成机理初探[D]. 上海: 华东师范大学, 2017.
- Liang Xiaoli. Revision of doubtful macrobenthic species and the preliminary study of formation mechanism of estuarine species in the Yangtze Estuary[D]. Shanghai: East China Normal University, 2017.
- [86] 朱小静. 长江河口大型底栖动物及游泳动物 DNA 条形码研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- Zhu Xiaojing. DNA barcoding of macrobenthic invertebrates and nektons in the Yangtze Estuary[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [87] 姚瑞. 基于高通量 DNA 测序的南麂列岛海洋底栖环节动物多样性分析[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2018.
- Yao Rui. Analysis of marine benthic annelid diversity in Nanji Islands based on high-throughput DNA sequen-

- cing[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2018.
- [88] 李琪, 邹山梅, 郑小东, 等. DNA 条形码及其在海洋生物中的应用[J]. 中国海洋大学学报, 2010, 40(8): 43-47.
Li Qi, Zou Shanmei, Zheng Xiaodong, et al. DNA Barcoding and its applications in marine organisms[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(8): 43-47.
- [89] Liu J, Li Q, Kong L F, et al. Cryptic diversity in the pen shell *Atrina pectinata* (Bivalvia: Pinnidae): high divergence and hybridization revealed by molecular and morphological data[J]. Molecular Ecology, 2011b, 20(20): 4332-4345.
- [90] 林吉平. 中国沿海真帽贝分类及美女蛤隐存种研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Lin Jiping. Study in classification of true limpets and cryptic diversity of *Circe scripta* along coast of China[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [91] 陈炼, 吴琳, 王启菲, 等. DNA 条形码及其在生物多样性研究中的应用[J]. 四川动物, 2016, 35(6): 942-949.
Chen Lian, Wu Lin, Wang Qifei, et al. Application of DNA barcoding in biodiversity[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2016, 35(6): 942-949.
- [92] 薛银刚, 许霞, 蔡焕兴, 等. DNA 条形码技术在水生生物分类中的研究进展[J]. 环境监测与预警, 2012, 4(6): 23-26.
Xue Yingang, Xu Xia, Cai Huanxing, et al. The research progress of DNA barcoding in aquatic taxonomy[J]. Environmental Monitoring and Forewarning, 2012, 4(6): 23-26.
- [93] 林森杰, 王路, 郑连明, 等. 海洋生物 DNA 条形码研究现状与展望[J]. 海洋学报, 2014, 36(12): 1-17.
Lin Senjie, Wang Lu, Zheng Lianming, et al. Current status and future prospect of DNA barcoding in marine biology[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2014, 36(12): 1-17.
- [94] Song H, Buhay J E, Whiting M F, et al. Many species in one: DNA barcoding overestimates the number of species when nuclear mitochondrial pseudogenes are coamplified[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(36): 13486-13491.
- [95] Feng J J, Jiang D C, Shang H Y, et al. Barcoding poplars (*Populus* L.) from western China[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e71710.

Advances in DNA barcoding of macrozoobenthos in coastal waters of China

YANG Mei^{1, 2, 3}, KOU Qi^{1, 2, 3, 4}, LI Xin-zheng^{1, 2, 3, 4}

(1. Department of Marine Organism Taxonomy and Phylogeny, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Jul. 26, 2018

Key words: Macrozoobenthos; DNA barcoding; taxonomy; species identification

Abstract: DNA barcoding is a technology utilized for accurate and rapid identification of species by analyzing standard short DNA sequences with sufficient variation in organism. Macrozoobenthos communities are widely distributed in the ocean, with high diversity, complexity and homoplasy. Combined with traditional morphological methodology, DNA barcoding can identify species rapidly and accurately. In this paper, we summarize the current developments in DNA barcoding of Macrozoobenthos (i.e., Porifera, Cnidaria, Polychaeta, Mollusca, Crustacea, and Echinodermata) in coastal waters of China and introduce its advances in species identification, cryptic species, and biodiversity assessment. We also discuss the limitations and future prospect of DNA barcoding.

(本文编辑: 罗 璇 丛培秀)